

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：32658

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2012～2016

課題番号：24116001

研究課題名（和文）マイクロエンドフェノタイプによる精神病態学の創出

研究課題名（英文）Unraveling the micro-endophenotypes of psychiatric disorders at the molecular, cellular and circuit levels

研究代表者

喜田 聡（Kida, Satoshi）

東京農業大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：80301547

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 192,200,000円

研究成果の概要（和文）：本領域では、回路・細胞・分子動態レベルの精神病態である「マイクロエンドフェノタイプ」の同定とその分子基盤解明を進めることで、精神疾患研究が統合的に進展する研究領域を創出することを目的とした。領域班会議、支援活動、国内・国際シンポジウムの開催、若手育成活動、アウトリーチ活動を積極的に行い、統合失調症、双極性障害、PTSDなどのマイクロエンドフェノタイプの同定、新規技術の開発にも進展した。さらに、研究成果に基づいた臨床試験も開始されつつある。以上から、精神疾患のマイクロエンドフェノタイプを同定し、その生物学的性状を理解しようとする精神疾患の基礎研究の方向性が確立されたと考えている。

研究成果の概要（英文）：To develop basic research on psychiatric disorders, we tried to identify “micro-endophenotypes” that are the visualized phenotypes of psychiatric disorders at the molecular, cellular and circuit levels, as an interface between basic and clinical studies, and understand their molecular basis. To do this, we had more than 7 meetings to present and share our findings and employed support activities for scientist in this innovative area by providing with analyses of next generation sequence and epigenome, imaging using two-photon excitation microscopy and STORM/STED, iPS cells derived from patients of psychiatric disorders and so on. We also encouraged young scientists to join basic research fields of psychiatric disorders. Through these activities, we identified candidates of micro-endophenotypes of psychiatric disorders such as schizophrenia, bipolar disorders, PTSD and depression and furthermore, developed state-of-the-art technologies to identify and analyze micro-endophenotypes.

研究分野：神経科学

キーワード：神経科学 精神疾患 脳・神経 精神病態 マイクロエンドフェノタイプ PTSD 統合失調症 気分障害

1. 研究開始当初の背景

精神疾患が国内五大疾患の一つと位置付けられた今、その克服が急務である。精神疾患はゲノムと環境の複合的要因による高次脳機能障害を原因とするものである。多くの疫学研究から、環境要因が精神疾患の発症と病態に関与することが明らかにされ、環境要因を反映した動物モデルが開発されている。一方、遺伝学的研究から、多くのゲノム要因が精神疾患発症に関与することも証明されつつある。しかし、以下の点から、国内外の精神疾患研究は、良好な状態であるとは言い難かった。(1) 基礎神経科学研究領域においてすら、精神活動の基盤となるシナプス・細胞・回路レベルの脳内現象は未だブラックボックスの状態であるため、精神疾患の分子機構解明は極めて難易度の高い生命科学の課題と言える。従って、基礎から臨床に至る多段階の研究を必要とする精神疾患研究には臨床業務を兼務する医師のみでは太刀打ちできないことは明確であるものの、国内では精神疾患は医学系研究機関の一部で研究されているに過ぎない。特に、国内では、ガンや生活習慣病の研究と比較して、基礎研究者が極端に少なく、層が薄い点が問題である。(2) 現在の精神疾患研究では、ヒトと動物の研究が二極分化しており、ヒト(患者)を対象として脳画像やゲノムを解析する臨床研究と、モデル動物等を用いて動物実験のみで解決しようとする基礎研究が別々に進められてきた。(3) 精神疾患の研究対象とされてきたエンドフェノタイプですら、心理・生理・行動レベルの表現型であり、基礎研究の対象になり難いものであった。(4) 世界的に大規模ゲノムワイド解析が進んでいるが、単純なゲノム解析だけでは、精神疾患の多様性の理解が難しいこともわかってきた。

2. 研究の目的

以上のような国内外の精神疾患研究の現状を改革するために、本領域では、生活習慣病やガンの研究領域のように、多様な基礎研究者が結集し、ヒトと動物を対象とする臨床研究と基礎研究が有機的に統合された新たな精神疾患研究領域を国内に創出することを目的とする。この実現に向けて、分子動態・細胞・回路レベルで可視化された精神病態、すなわち、「マイクロエンドフェノタイプ」を共通概念として、ゲノム要因と環境要因を再現した動物モデルと、ヒト由来試料(iPS細胞と死後脳)を用いた解析から、各精神疾患に特異的あるいは共通するマイクロエンドフェノタイプを同定する。さらに、モデル動物・細胞を用いて、マイクロエンドフェノタイプの分子基盤・病態機序を分子細胞生物学的に解明する。この「マイクロエンドフェノタイプ」はヒトを対象とする研究、モデル動物を用いた研究と、精神病態の分子基盤を解明する分子細胞生物学的研究、これら三者間を結び、かつ、基礎研究者に課題を提示す

るインターフェイス的役割を果たすものとなる。ヒトと動物研究の融合を図るため、同定されたマイクロエンドフェノタイプの妥当性を検証し、最終的には、精神疾患を、分子動態・細胞・回路の言葉で語るができる統合的な精神疾患研究領域を確立することを目標とする。さらに、本領域では、総括班の活動を通して、「何を研究すれば精神疾患研究に貢献できるか」を基礎研究者に明確に伝え、多様な基礎研究者の本領域への参入を促し、基礎と臨床研究が有機的に統合された盤石な体制を国内に整える。

3. 研究の方法

これまでに記した新学術領域の目的を実現するために、総括班による領域マネジメントは極めて重要となる。総括班は、国内外の精神疾患研究をリードしてきた実績を持つ計画研究班員10名によって構成され、領域目標達成のための領域の活動全般をマネジメントする。総括班員が中心となって、臨床研究者と基礎研究者とが忌憚なくディスカッションできる場を設け、相互理解を深める。特に、単なる会話で終わることのないように、総括班が仲介となって、共同研究実施を奨励し、真の研究融合が行われるようにマネジメントする。実際の総括班の活動として、研究成果報告会、若手研究会、ワークショップ、国内・国際シンポジウムを開催し、臨床研究と基礎研究との間の垣根を除き、両者の有機的統合を図る。

総括班には、研究調整委員会、企画実行委員会、研究支援委員会、若手研究者育成委員会、実験倫理委員会、評価委員会を置く。研究調整委員会では、領域外の研究者によって構成される評価委員の評価・助言を参考にし、領域の研究方向性の確認と修正を行う。企画実行委員会では、領域内の研究成果報告会、国内外のシンポジウム及び研究会の企画、領域ホームページの作製とアップデート、ニュースレターの発行を行う。また、アウトリーチ活動をオーガナイズする。若手研究者育成委員会では、若手研究者と大学院生を中心とした若手研究会の企画、研究室訪問や海外の研究者との交流を企画する。実験倫理委員会では、計画研究で遂行される研究に対して、研究倫理の観点から助言する。評価委員会では、領域の運営に対して評価と助言を行う。

総括班の重要なアクティビティとして、支援活動を行い、領域の活性化を図る。そのため、マイクロエンドフェノタイプの基本的な解析技術、特に、分子動態・細胞・回路レベルで精神病態を可視化する技術がほぼ網羅されるように研究支援委員会(支援班)を設置し、一研究室では困難な解析を、支援班との連携により可能とする。この支援活動を通して、領域におけるマイクロエンドフェノタイプ同定の基盤技術の普及と、分子細胞生物学的解析の技術水準の向上を目指す。また、技術研修も行い、領域内の基礎研究技術の向

上を目指す。

4. 研究成果

総括班会議

平成 24 年 7、9 月、平成 25 年 3、8 月、平成 26 年 2 月とこれまでに計 5 回開催し、領域全体の活動方針、公募研究の公募に向けた方針、支援活動の実施方針、シンポジウムの企画を協議し、決定した。

領域班会議

初回は平成 25 年 3 月に那須において開催した。この班会議には、計画研究代表者と分担者、さらに、大学院生並びにポスドク等の若手研究者を含めた 40 名以上が参加した。計画研究代表者が計画研究の内容と進捗状況を報告し、計画研究に携わる研究者の相互理解を深めると共に、領域内の研究方向性の意思統一を図り、領域内の共同研究を推進した。

平成 25 年 6 月に京都において、公募研究のキックオフ企画として、計画研究代表者と公募研究代表者が一同に介した領域班会議を開催し、領域の活動方針を共有し、支援活動の紹介と共に共同研究の推進を図った。同年 8 月名古屋において、第三回領域班会議を開催し、100 名以上が参加して計画研究と公募研究の代表者全員が研究紹介と成果発表を行い、研究交流を活発に行った。平成 26 年 2014 年 7 月宮城県蔵王、12 月東京において、計画研究と公募研究の代表者が参加する領域班会議を開催し、領域内研究成果を発表し、領域内の研究内容を総括すると共に、今後の研究方針を決定した。

平成 27 年 6 月に東京において、第二期の公募研究のキックオフ企画として、計画研究代表者と公募研究代表者が一同に介した領域班会議を開催し、領域の活動方針を共有し、支援活動の紹介と共に共同研究の推進を図った。同年 8 月八ヶ岳において、領域班会議を開催し、領域内研究成果を発表し、領域内の研究内容を総括し、新たな共同研究の進展を後押しした。平成 29 年 2017 年 1 月新潟において、領域の最終班会議を 2 泊 3 日にわたって開催し、計画研究並びに 1 期と 2 期の公募研究代表者が集結し、領域内研究成果を発表し、領域内の研究内容を総括した。

領域主催、共催のシンポジウム

キックオフシンポジウム及び公募研究説明会を平成 24 年 9 月名古屋、10 月東京において、計 2 回開催した。このキックオフシンポジウムでは、領域の活動開始が周知され、計画研究代表者が領域の研究内容を説明し、公募研究の公募要領の説明ならびに、公募開始を領域外に説明した。

平成 25 年 3 月東京において若手育成国際シンポジウム「International Symposium on Genes to Cognition (遺伝子から認知機能へ)」を開催し、海外からの研究者が (Karim Nader, Bernard Balleine など) 講演し、若手研究者並びに大学院生に海外研究者との交流の場を

提供した。同年、6 月には京都において 200 名以上が参加して国際シンポジウム「認知の分子・細胞・回路機構」を開催した。Alcino J. Silva, Cristina M. Alberini, Todd C. Sacktor, Eric Klann ら計 14 名の著名な研究者を招聘した。平成 26 年 9 月東京において、また、平成 27 年 1 月熱海、平成 27 年 7 月東京において国際シンポジウムを主催した (Paul Frankland, Mauro-Costa Mattioli, Karl Peter Giese, Brian Wiltgen, Bong-Kiun Kanng, Min Zhuo, Graham Collingridge, Tim Bliss などが講演)。平成 28 年は最終年度であったため、領域の集大成として、7 月に横浜において 8 名の研究者を海外から招聘して国際シンポジウムを主催した (Kazu Nakazawa, Jun Yao, Hongjun Song, Guo-Li Ming, Andrew Holmes, Mazen Kheirbek などが講演)。

学会等において、シンポジウム「精神疾患研究のパラダイムシフト-精神病態のマイクロエンドフェノタイプ-」(日本神経精神薬理学会; 25 年)、「農芸化学における精神疾患のマイクロエンドフェノタイプ」(日本農芸化学会; 26 年)、「マイクロエンドフェノタイプから考える精神疾患研究」(日本生物学的精神医学会/日本神経化学会合同年会; 26 年)、「基礎脳科学者のための精神疾患臨床 ABC 教育コース」(日本神経科学会; 26 年)などを代表として、領域の研究活動を紹介するシンポジウムを企画し、実施した。また、日本神経科学会、日本神経化学会、日本神経精神薬理学会、日本生物学的精神医学会などの国内主要学会において、計画研究代表者、公募研究代表者がシンポジウムを開催し、研究成果を発表した。

若手育成支援

領域班会議では、領域内の若手研究者の育成を目的として、若手研究者(ポスドクと大学院生)によるポスターセッションを毎回開催し、研究交流した。

平成 26 年 2 月群馬において 70 名以上が参加した領域内若手育成シンポジウムを 2 日間にわたり開催した。このシンポジウムでは、領域外より、現場で活躍する精神科医講師を招いて精神疾患の病態に関するレクチャー企画し、その後、精神病棟を見学し、精神疾患病態の実体の理解を目指した。

平成 28 年 3 月には、精神疾患の基礎研究と臨床研究間のギャップを理解し、今後の連携を深めるための講演と討論会「Bench and Bed on the Round Table」を開催し、100 名以上が参加し、講演と指定論者を中心としたディスカッションを行った。理化学研究所研究基盤センター及びマーモセット棟を含む動物施設と研究室の見学も行った。また、論文作製・執筆の方法に関して講演をお願いし、その後、講師とテーブルディスカッションを行い、若手が講演するシンポジウムも実施した。

平成 29 年 1 月には、新潟大学脳研究所の研究所見学が行われた。

新学術領域「適応回路シフト」、「記憶ダイ

ナミズム」と連携して、平成 26 年、27 年、28 年に若手が講演する「若手シンポジウム」を開催し、若手の飛躍を後押しした。さらに、平成 27 年には若手育成シンポジウムを開催し、精神疾患及び神経変性疾患研究の今後の展望や、新しい技術を使った研究の展開などを議論する場を設けた。

日本神経化学会における若手研究者育成セミナーに、講師として計画研究代表者がほぼ毎年参加し、若手育成教育を行った。また、生理学研究所の国際ワークショップ、情動研究会、記憶回路研究会に大学院生を派遣して、若手育成を図った。

ニュースレターの発行

ニュースレターを計 4 号、各号千部以上発行し、研究機関・大学・研究者等に広汎に配布した。ニュースレターでは、単に領域と研究内容を周知するのみならず、精神疾患の基礎研究を推進するために、著名な研究者を招いて今後の国内の精神疾患基礎研究を考える座談会を各号で企画した。「精神疾患モデル動物がどうあるべきか」、「今後の精神疾患研究がどうあるべきか」などの議論の様子とその内容を掲載した。さらに、一般と学部学生向けの精神疾患の解説等も掲載し、精神疾患研究の重要性を社会に訴える内容も盛り込んだ二段階構成とした。

領域ホームページの開設

平成 24 年 8 月にホームページを開設し、領域の発足、領域の活動、研究内容、公募研究の要領、研究成果の発信の場として活用した。

アウトリーチ活動

領域主催の高校生向け公開講演会を平成 25 年、27 年、28 年に開催し、「先端的脳科学に挑戦する-基礎研究の成果を医学応用する-」、「先端的脳科学に挑戦する -科学の力で脳を操作する。脳力の向上と疾患治療を目指して-」などの講演を行った。

ニュースレターでは、一般向けに精神疾患と精神疾患研究の解説を記した。

計画・公募研究代表者らが中心となって、市民公開講座を開催し、精神疾患研究の現状とその重要性を訴えた。また、高校への出張講義・実験講習、サイエンスカフェの開催と講演、メディア出演など、計 114 件のアウトリーチ活動が行われた。

領域内の研究成果や研究活動が計 45 件報道された

支援活動

総括班では、計画研究と公募研究に対する支援活動を充実させて領域内共同研究の推進を図ってきた。特に、STED/3D-STORM 顕微鏡の整備、疾患患者由来 iPS 細胞の作製と提供、次世代シーケンサーを用いた網羅的塩基配列決定や RNA-Seq 等多岐にわたる支援活動を行った。

以下に、計画研究代表者による支援班の活動を記述する。

A01 廣瀬は、研究領域内で共有する STED 顕微鏡及び 3D-STORM 顕微鏡を構築した。

超分子構造を世界最高性能の空間解像度で可視化することに特化した STED/3D-STORM 顕微鏡システムを構築するため、non-descanned 検出光学系、無収差走査光学系の設計を行い、設計に基づいて顕微鏡光学系を構成する光学部品、機器をセットアップした。顕微鏡システムを制御するソフトウェアも開発し、標本に最適なイメージング条件の設定を可能にした。取得した多色、タイプラプス超解像イメージングデータの解析に供する解析ソフトウェアの開発と改良を完了し、実際に計画していた 20nm 以下の空間分解能での培養神経細胞、脳スライス標本での超解像イメージングを実現した。完成した超解像顕微鏡システムは廣瀬の計画研究のみならず、計画班員喜田の恐怖記憶マウス由来の大脳皮質標本や計画班員吉川の統合失調症患者 iPS 由来の神経細胞標本を中心に領域内での支援活動に広く用いた。

A01 吉川は、精神疾患患者および健常対照からの末梢血 T 細胞由来 iPS 細胞 (TiPS 細胞) の作製と iPS 細胞の提供を行ってきた。計画班員那波、鶴飼、岩本、廣瀬らには、精神疾患患者由来の iPS 細胞から分化誘導を行って作製した神経幹細胞 (NS) や神経細胞の提供を行った。

A01 林は 2 光子励起顕微鏡支援を行い、計画研究・喜田、公募研究・佐藤らとの技術共有、また、若手研究者に対するイメージング技術指導など若手育成支援を行った。さらに、ウイルスベクター支援として、うつ病関連遺伝子である EphA4 遺伝子を発現するアデノ随伴ウイルスベクターを A02 の橋本班に提供し、ウイルス投与などの技術供与を行った。また 2 光子励起イメージング支援として、公募研究・喜多村、菅谷、佐藤、和氣らとの緊密なディスカッションによりイメージングや光刺激についての互恵的技術共有を行った。

A02 加藤は、行動リズム解析など、計画研究・吉川との連携で、新たな精神疾患モデル動物の解析の支援活動を行っており、計画研究・岩本らとの連携で、環境因およびゲノム要因を持つモデル動物における LINE1 の転移について支援活動を行った。

A03 岩本はエピゲノム解析を支援活動し、公募班員宮川、森信、久保、古屋敷らに対するエピゲノム解析の実験デザインの構築、解析手法に関する情報支援、また、公募班員國井らに対する技術支援を行った。また、患者 DNA 検体のメチル化解析を提供しており、次世代シーケンサーを用いた網羅的かつハイスループットな DNA メチル化の新規解析系の確立も行った。

A03 喜田は、次世代シーケンサーを用いた網羅的解析支援を行ってきた。計画班員橋本、那波、公募班員櫻井、小出らに多検体の網羅的トランスクリプトーム解析などを支援した。この過程で、個体差のある動物個体のトランスクリプトームを解析する場合の

ストラテジーを確立し、定量性の高いトランスクリプトーム解析手法に習熟した。行動解析支援を通して、マウス行動解析の初心者向け2日間のコースも開催した。

総括

以上の活動を通して、動物モデルと iPS 細胞及び死後脳のスライス試料とを組み合わせた有機的な共同研究が盛んに行われ、その成果として、統合失調症（トランスポゾン LINE-1 のゲノム動態）、双極性障害（視床室傍核の障害）、PTSD（トラウマ増強回路の同定）などのマイクロエンドフェノタイプの同定が進んだ。また、マイクロエンドフェノタイプを解析するため、スパイン形態を人為的に消去する世界初の新規技術（Synaptic optogenetics）の開発にも成功した。さらに、精神疾患患者由来 iPS 細胞を用いた研究も進展し、「培養細胞を用いた精神疾患研究」の方法論の有用性も示し、細胞生物学者が精神疾患研究を行う道筋を示した。一方、本領域における基礎研究の成果に基づいた臨床試験も開始されつつある。以上の本領域の成果から、回路・シナプス・細胞・分子動態レベルの表現型、すなわち、マイクロエンドフェノタイプが精神疾患の病態の実態であることが実証されつつある。このように、本領域の進展により、精神疾患研究に基礎研究者の参入を促す体制が構築され、マイクロエンドフェノタイプを同定し、その生物学的性状を理解しようとする精神疾患の基礎研究の方向性が確立されたと考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 119 件) 代表を以下に記す。

- (1) Toyoshima M, Akamatsu W, Okada Y, Ohnishi T, Balan S, Hisano Y, Iwayama Y, Toyota T, Matsumoto T, Itasaka N, Sugiyama S, Tanaka M, Yano M, Dean B, Okano H, Yoshikawa T: Schizophrenia patient-derived induced pluripotent stem cells exhibit changes in neurogenic and gliogenic competences. *Translational Psychiatry* 6: e934, 2016. 査読有 doi: 10.1038/tp.2016.206.
- (2) Hayashi-Takagi A, Yagishita S, Nakamura M, Shirai F, Wu YI, Loshbaugh AL, Kuhlman B, Hahn KM, Kasai H Labelling and optical erasure of synaptic memory traces in the motor cortex. *Nature* 525: 333-338 2015 査読有 Doi 10.1038/nature15257
- (3) Kasahara T, Takata A, Kato TM, Kubota-Sakashita M, Sawada T, Kakita A, Mizukami H, Kaneda D, Ozawa K, Kato T. Depression-like episodes in mice harboring mtDNA deletions in paraventricular thalamus. *Mol Psychiatry*. 21(1):39-48. 2016 査読有 doi: 10.1038/mp.2015.156.
- (4) Kida, S. & Kato, T. Microendophenotypes of psychiatric disorders -Phenotypes of psychiatric disorders at the level of molecular dynamics, synapses, neurons, and

neural circuits-. *Current Molecular Medicine*. 15:111-118, 2015 査読あり

- (5) Fukushima, H., Zhang, Y., Archbol, G., Ishikawa, R., Nader, K. Kida, S. Enhancement of fear memory by retrieval through reconsolidation. *eLife*, 3, e02736, 2014 査読有 doi: 10.7554/eLife.02736.
- (6) Bundo M, Toyoshima M, Okada Y, Akamatsu W, Ueda J, Nemoto-Miyauchi T, Sunaga F, Toritsuka M, Ikawa D, Kakita A, Kato M, Kasai K, Kishimoto T, Nawa H, Okano H, Yoshikawa T, Kato T, Iwamoto K. Increased $\text{I}\mu\text{I}$ retrotransposition in the neuronal genome in schizophrenia. *Neuron*, 81:306-313, 2014 査読有. DOI: 10.1016/j.neuron.2013.10.053

など

〔学会発表〕(計 217 件)

〔図書〕(計 9 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2 件)

○取得状況 (計 1 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://microend.umin.ne.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

喜田 聡 (KIDA, Satoshi)

東京農業大学・応用生物科学部・教授

研究者番号：80301547

(2) 研究分担者

吉川 武男 (YOSHIKAWA, Takeo)

理化研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー

研究者番号：30249958

林 朗子(高木 朗子) (HAYASHI, Akiko)

群馬大学・生体調節研究所・脳病態制御分野・教授

研究者番号：60415271

廣瀬 謙造 (HIROSE, Kenzo)

東京大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00292730

加藤 忠史 (KATO, Tadafumi)

国立研究開発法人理化学研究所・脳科学総合研究センター・チームリーダー

研究者番号：30214381

岩本 和也 (IWAMOTO, Kazuya)

熊本大学・大学院生命科学研究部・教授

研究者番号：40342753

(3) 連携研究者

橋本 謙二 (HASHIMOTO, Kenji)

千葉大学・社会精神保健教育研究センター・教授

研究者番号：10189483

富田 博秋 (TOMITA, Hiroaki)

東北大学・災害科学国際研究所・教授

研究者番号：90295064

那波 宏之 (NAWA, Hiroyuki)

新潟大学・脳研究所・教授

研究者番号：50183083